Lane Medical Library

Über die Wirkung von Ammoniak und Ammoniakderivaten auf die Oxydationsprozesse in Zellen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

einer Hohen medizinischen Fakultät

der

Großherzoglich Badischen Ruprecht-Karls-Universität

zu Heidelberg.

Vorgelegt von

Eduard Grafe

aus Halle a. S.

Straßburg

Verlag von Karl J. Trübner

1912.

Gedruckt mit Genehmigung der hohen medizinischen Fakultät der Ruprecht-Karls-Universität in Heidelberg.

Referent:	Dekan:
Herr Geheimrat Prof. Dr. **Krehl.**	Herr Prof. **Hermann Kossel.**

Separat-Abdruck aus
Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie, Band 79.

Über die Wirkung von Ammoniak und Ammoniakderivaten auf die Oxydationsprozesse in Zellen.

Von

Eduard Grafe.

(Aus der medizinischen Klinik in Heidelberg.)

Als Fortsetzung der Untersuchungen über Oxydationsbeeinflussungen soll im folgenden über die Wirkung des Ammoniaks, der einfachen Amine und der komplizierteren Amine (Alkaloide) berichtet werden. Die Versuchsanordnung war dieselbe, wie sie in früheren Arbeiten ausführlich beschrieben worden ist.[1]) Herr Dr. Warburg hat mich zur Ausführung dieser Untersuchung angeregt und bei ihr angeleitet.

Ein bemerkenswerter Unterschied im Verhalten der Zellen gegen basische Substanzen besteht darin, daß beim Vermischen und Waschen der Zellsuspensionen mit basischen Lösungen Gleichgewichte nicht erreicht werden. Mischt man z. B. 2 ccm Zellsuspension (in physiologischer Kochsalzlösung) mit 15 ccm $^1/_{200}$-n-Ammoniaklösung (gleichfalls in physiologischer Kochsalzlösung), zentrifugiert und bestimmt die OH-Ionenkonzentration in der überstehenden Flüssigkeit, so findet man sie bedeutend geringer, als einer Verdünnung von 15 : 17 ccm entsprechen würde. Mit Hilfe von Indikatoren kann man sich leicht hiervon überzeugen. Die Alkalescenzabnahme, die sofort und auch bei 0° eintritt, findet jedesmal beim Vermischen mit neuen Quantitäten Basenlösung wieder statt, wobei die Ursache zunächst u. a. eine Speicherung von Ammoniak in der Zelle ist; später nimmt nicht mehr die NH_3-Menge, sondern nur noch die OH-Ionenkonzentration in der überstehenden Flüssigkeit ab, wie kolori-

[1]) Warburg, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 76, S. 331 (1912). Warburg u. Wiesel, Pflügers Archiv, Bd. 144, S. 465. Ferner eine kurze Mitteilung über Wirkung basischer Substanzen. O. Warburg, Verhandlungen des Deutschen Kongresses für innere Medizin 1911, S. 553.

metrische Ammoniakbestimmungen nach Neßler lehren. Wäscht man fortgesetzt mit selbst äußerst verdünnten Ammoniaklösungen, so gehen die Zellen unter Farbstoffaustritt zugrunde. Ähnlich wie Ammoniak verhalten sich die einfacheren und zum Teil auch die komplizierteren Amine.

Unter diesen Verhältnissen hängt es völlig von der Menge der Basenlösung bezw. von der Zahl der Waschungen ab, mit welcher Konzentration eine Wirkung erzielt wird, je nach der Anordnung läßt sich mit $^1/_{100}$ oder $^1/_{1000}$-n-Ammoniak das Gleiche erreichen und es entsteht die Frage, ob zahlenmäßigen Angaben überhaupt ein Wert zukommt. Diese Frage muß bejaht werden, weil bei einigermaßen ähnlichem Vorgehen die Regelmäßigkeit der Resultate völlig befriedigend ist. Versuche, die im Laufe der letzten $1^1/_2$ Jahre zu verschiedenen Jahreszeiten, mit verschiedenstem Zellmaterial angestellt wurden, verliefen ausnahmslos gleich, sodaß die Versuchsbedingungen als ebensogut reproduzierbar bezeichnet werden müssen, wie diejenigen, bei denen es sich um Gleichgewichtskonzentrationen handelt.

Die Experimente können entweder so angeordnet werden, daß die Konzentrationen der Basenlösungen oder bei gleichen Konzentrationen die Mengen der Basenlösungen variiert werden. Im folgenden wurde meist nach dem zweiten Modus verfahren, und je nachdem mit einer Basenlösung bestimmter Konzentration einmal, zweimal oder mehrmals gewaschen wurde, konnte die ganze Skala der Basenwirkung beobachtet werden, d. h. bei kleinster Menge Steigerung der Oxydationsprozesse, bei größerer Menge reversible Hemmung, bei noch größerer Menge irreversible Hemmung und schließlich Hämolyse. Diese Stufenfolge ist charakteristisch für die einfachen Amine bis hinauf zum Coniin und Nicotin, während bei den komplizierteren Aminen mit hohem Molekulargewicht die eine oder andere Erscheinung ausfällt, wofür teilweise die Löslichkeitsverhältnisse verantwortlich zu machen sind.

Worin besteht nun das Wesen der Aminwirkung? Im Ammoniak sind im chemischen Sinn reaktionsfähig die Wasserstoffatome der Amidogruppe und man könnte wohl erwarten, daß ein Zusammenhang dieser reaktionsfähigen Atome mit der

Wirkung auf die chemischen Prozesse in der Zelle besteht, daß also beispielsweise tertiäre Amine, in denen diese Wasserstoffatome substituiert sind, schwächer oder anders als Ammoniak reagieren; daß Allylamin vermöge seiner Doppelbindung Unterschiede zeigt gegenüber der gesättigten Verbindung, dem Propylamin usw. Das ist nicht der Fall.

Für eine große oder vielleicht die größte Zahl der Kohlenstoffverbindungen wurde eine Abhängigkeit der Wirkungsstärke von gewissen physikalischen Eigenschaften, die im Zusammenhang mit ihrem Teilungsverhältnis zwischen Öl und Wasser stehen, festgestellt. Diese Beziehung besteht nicht für die Amine, Substanzen mit so verschiedenem Teilungsverhältnis, wie Ammoniak und Piperidin einerseits, Amylamin und Coniin anderseits, wirken fast gleich.

Anordnung: 2 ccm Zellsuspension + 10 ccm Basenlösung.

Tabelle I.

Substanz	Hemmend g Mol. pro Liter	Dissoziation in % in $^1/_{256}$-n-Lösung nach Bredig
Ammoniak	$^1/_{50}$	7,5
Monomethylamin	$^1/_{100}$	29
Dimethylamin	$^1/_{100}$	35
Trimethylamin	$^1/_{50}$	13
Triäthylamin	$^1/_{100}$	33
Propylamin	$^1/_{100}$	29
Allylamin	$^1/_{75}$	11,4
Amylamin	$^1/_{100}$	29,4
Benzylamin	$^1/_{50}$	7,6
Piperidin	$^1/_{100}$	46
Coniin	$^1/_{100}$	43
Nicotin	$^1/_{35}$	$>7,5$

Einzig und allein ausschlaggebend ist offenbar die Konzentration der OH-Ionen im wässerigen Teil

der Zelle. Ein Blick auf vorstehende Tabelle lehrt erstens, daß die Wirkungsstärke der verschiedenartigsten Amine ihrer Größenordnung nach die gleiche ist, zwischen Ammoniak, Trimethylamin, Nicotin, Allylamin sind, im Vergleich zu den enormen Unterschieden, die bei neutralen Substanzen gefunden wurden, nur ganz geringfügige Differenzen. Vergleicht man nun die (nebenstehenden) Dissoziationskonstanten, so ist eine Beziehung zu den Wirkungsstärken ganz unverkennbar, während die Tatsache, daß die Größenordnung der Wirkungsstärken die gleiche ist, ihre befriedigende Erklärung darin findet, daß auch die Größenordnung der Dissoziation dieser Substanzen gleich ist.

Gleichzeitig folgt, daß chemische Reaktionen, die nach den Formeln etwa denkbar wären, in der Zelle entweder nicht vor sich gehen oder jedenfalls für die Wirkung belanglos sind.

In der zweiten Tabelle ist die Anordnung so gewählt, daß 2 ccm Zellsuspension etwa dreimal mit 16 ccm Basenlösung gewaschen wurden. In Übereinstimmung mit den obigen Erörterungen sind dann die absoluten wirksamen Konzentrationen erheblich niedriger, während dieselben relativen Verhältnisse wie in Tabelle I bestehen.

Auf eine Theorie dieser Wirkungen einzugehen, ist sicherlich verfrüht, doch sei im Zusammenhang mit dem merkwürdigen gegensätzlichen Verhalten verschiedener OH-Ionenkonzentrationen — Steigerung der Oxydationsprozesse bei kleinen, reversible Hemmung bei größeren Konzentrationen — daran erinnert, daß die Wirkung der OH-Ionen auf kolloidchemische Phänomene vielfach durch ein Maximum geht.[1])

Die komplizierteren Amine (Alkaloide) wirken deutlich stärker, als ihren Dissoziationskonstanten entspricht, wie folgende Beispiele zeigen (Tabelle III).

---

[1]) Freundlich, Über Adsorption in Lösungen. Zeitschrift für physikalische Chemie, Bd. 57, S. 461 (1906). Bredig, ibid., Bd. 31, S. 258 (1899).

Tabelle II.

Substanz	g Mol. pro Liter	Oxydationshemmung in %
Ammoniak . .	1/100	79 (Vers. 5)
Methylamin .	1/200	84 (» 8)
Dimethylamin	1/200	82 (» 11)
Propylamin .	1/200	76 (» 7)
Allylamin . .	1/200	73 (» 12)
Amylamin . .	1/200	77 (» 10)
Nicotin . . .	1/50	62 (» 9)
Coniin	1/200	57 (» 6)

Tabelle III.

Substanz	g Mol. pro Liter	Oxydationshemmung in %
Brucin . . .	n/200	64 (Vers. 14)
Chinin . . .	1/1000	76 (» 15)
Codein . . .	n/400	36 (» 16)
Cocain . . .	n/400	43 (» 17)
Atropin . .	n/400	90 (» 18)

Anhangsweise sind noch Versuche mit einigen pharmakologisch wichtigen Substanzen: Coffein, Antipyrin, Veronal u. a. beigefügt. Bemerkenswert ist vielleicht, daß Veronal, das in 1/30-n-Lösung deutlich hemmt, in neutraler Lösung fast wirkungslos ist; auf Grund der Overtonschen Plasmahauttheorie ohne weiteres verständlich, denn Diäthylbarbitursäure ist lipoidlöslich, das Natronsalz, wie die meisten Salze, lipoidunlöslich.

Methodik.

Die Versuche sind wieder mit roten Blutzellen anämischer Gänse ausgeführt und in fast allen Einzelheiten die Vorschriften befolgt, die in dieser Zeitschrift, Bd. 76, S. 331 gegeben wurden.

Die Druckverminderung ohne Atmung wurde diesmal nicht mit einer Cyanidkontrolle bestimmt, sondern die Hemmung war durch Ammoniak oder andere Basen bewirkt. Um sicher zu sein, daß das Serum beim Waschen in Kochsalzlösung hinreichend entfernt war, wurde so lange gewaschen, bis die überstehende Flüssigkeit gegen Neutralrot sauer reagierte. Stets wurden 2 ccm konzentrierte Zellsuspension verwendet. Unter «Waschen» ist im folgenden Auffüllen von 2 ccm Zellsuspension auf 18—20 ccm verstanden, und wieder Abhebern der überstehenden Flüssigkeit auf ca. 2 ccm.

Versuch 1—4 zeigt, daß physiologische Kochsalzlösung die Atmung in längeren Zeiten vermindert.

Solche längere Versuchszeiten kommen in Betracht, wenn geprüft werden soll, ob eine Hemmung reversibel ist. Für diese Experimente wurde deshalb eine Art Lockesche Lösung verwendet, in der die Atmung hinreichend konstant bleibt.

Die Temperatur des Thermostaten, in dem die Atmungsversuche vorgenommen wurden, betrug etwa 29°.

Die Basenlösungen wurden entweder aus den Salzen durch Zufügung kohlensäurefreier Natronlauge hergestellt;[1]) stand nur die freie Base zur Verfügung, so wurde sie mit überschüssiger Salzsäure angesäuert, einige Minuten geschüttelt und die Salzsäure wieder genau mit kohlensäurefreier Natronlauge neutralisiert. Mit konzentrierter Natriumchloridlösung wurde dann der physiologische osmotische Druck bezüglich Natriumchlorid hergestellt.

Versuche.

A. Untersuchung von Salzlösungen.

1. Physiologische NaCl-Lösung.

Versuch 1. 4 Blutsuspensionen von je 2 ccm wurden mit 0,9 % NaCl-Lösung auf 10 ccm aufgefüllt und für eine bestimmte Zeit in den Thermostaten von 29° gebracht.

4 Blutsuspensionen von je 2 ccm wurden ebenso behandelt, dann mehrmals mit 0,9 % NaCl-Lösung gewaschen und für die gleiche Zeit nochmals in den Thermostaten von 29° gebracht:

I mit 0,9 % NaCl aufgefüllt und für 2 Std. 30 Min. in den Thermostaten.

Ia wie I behandelt, dann 3 mal mit ca. 20 ccm NaCl-Lösung gewaschen und für 2 Std. 30 Min in den Thermostaten.

II mit 0,9 % NaCl aufgefüllt, für 1 Std. 45 Min. in den Thermostaten.

IIa wie II, dann 2 mal gewaschen und für 1 Std. 45 Min. in den Thermostaten.

III mit 0,9 % NaCl aufgefüllt; Dauer 1 Std. 30 Min.

IIIa wie III, dann 2 mal gewaschen und für 1 Std. 30 Min. in den Thermostaten.

IV mit 0,9 % NaCl aufgefüllt; Dauer 2 Std.

IVa wie III, dann 2 mal gewaschen und für 2 Std. in den Thermostaten.

---

[1]) Sörensen, Biochemische Zeitschrift, Bd. 21 (1909)

250 g NaOH
300 » Wasser

nach einigen Tagen das überstehende Wasser abpipettieren.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I erste 2 Std. 30 Min.	37	16	— 127	0,44
Ia zweite 2 » 30 »	37	16	— 75	0,26
II erste 1 Std. 45 Min.	37	16	— 142	0,50
IIa zweite 1 » 45 »	37	16	— 84	0,29
III erste 1 Std. 30 Min.	37	16	— 58	0,20
IIIa zweite 1 » 30 »	37	16	— 38	0,13
IV erste 2 Std.	37	16	— 92	0,32
IVa zweite 2 »	37	16	— 53	0,18

Resultat: Bei mehrstündigem Aufenthalt in 0,9% NaCl sinkt die Oxydationsgröße erheblich ab.

2. Physiologische NaCl-Lösung.

Versuch 2 soll die Frage beantworten, ob mehrmaliges Waschen in 0,9% NaCl-Lösung die Atmung beeinflußt. Es wurde I nur aufgefüllt, II 2 mal mit NaCl-Lösung gewaschen, III 4 mal mit NaCl-Lösung gewaschen, I, II und III kamen dann für 1 Std. 30 Min. in den Thermostaten.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I Nur aufgefüllt mit NaCl	37	16	— 89	0,31
II 2 mal gewaschen mit NaCl	37	16	— 82	0,29
III 4 » » » »	37	16	— 85	0,30

Resultat: Mehrmaliges Waschen in 0,9% Kochsalzlösung beeinflußt die Atmung nicht bemerkenswert.

3. Lockesche Lösung ohne $NaHCO_3$.

Versuch 3. Lösung pro Liter:

8,0 g NaCl,
0,3 » $CaCl_2$,
0,3 » KCl,
5,0 » Traubenzucker.

Wir bezeichnen diese Lösung im folgenden als modifizierte Locke-L.

Anordnung: I mit NaCl aufgefüllt, II mit modifizierter Locke-L. aufgefüllt, beide 2 Std. 5 Min. in den Thermostaten.

Ia wie I, dann 3 mal mit NaCl gewaschen.

IIa wie II, dann 3 mal mit modifizierter Locke gewachen; Ia und IIa nach dem Waschen nochmals für 2 Std. 5 Min. in den Thermostaten.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
NaCl erste Periode	37	16	— 143	0,50
NaCl zweite Periode	37	16	— 78	0,27
mod. Locke erste Periode . . .	37	16	— 145	0,51
» » zweite » . . .	37	16	— 107	0,37

Resultat: Die mit Lockescher L. und NaCl aufgefüllten Suspensionen haben in der ersten Periode von 2 Std. 5 Min. gleich stark geatmet. In der zweiten Periode ist ein deutlicher Abfall zu konstatieren, der für mod. Locke L. geringer als für NaCl ist.

4. Lockesche Lösung mit $NaHCO_3$.

Versuch 4. Lösung pro Liter:

7,2 g NaCl,
1,0 » $NaHCO_3$,
0,3 » $CaCl_2$,
0,3 » KCl,
5,0 » Traubenzucker.

Anordnung: wie in Versuch 3, Dauer einer Periode 90 Min.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
NaCl erste Periode	37	16	— 74	0,26
NaCl zweite Periode	37	16	— 54	0,19
Locke erste Periode	37	16	— 70	0,24
Locke zweite Periode	37	16	— 71	0,25

Resultat: Eine Schädigung der Atmung durch Lockesche Lösung mit $NaHCO_3$ findet nicht statt.

B. Untersuchung von Ammoniak und Ammoniakderivaten.

5. Ammoniak.

Versuch 5: Ammoniak.

Bereitung der Lösung: Zu 0,6 g NH_4Cl (berechnet 0,54 g) werden 100 ccm $^1/_{10}$-n-NaOH zugesetzt. Es fehlen dann bis zum physiologischen

Gehalt der Lösung noch 0,3 g NaCl, die in 1,5 ccm einer 20 % NaCl-Lösung zugegeben werden. Wir erhalten so $^1/_{10}$-n-NH_3 in physiologischer Kochsalzlösung. Diese Lösung, auf das 10fache mit NaCl (0,9 %) verdünnt, hat eine Konzentration von $^1/_{100}$-n.

Anordnung: Je 2 ccm einer konzentrierten Zellsuspension werden:
I 3 mal mit $^1/_{100}$-n-NH_3 gewaschen, dann auf 10 ccm aufgefüllt.
II mit $^1/_{100}$-n-NH_3 auf 10 ccm aufgefüllt.
III mit 0,9 % NaCl auf 10 ccm aufgefüllt.

	v.	t.	p.	Sauerstoffverbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	16	— 15	0,052
II aufgefüllt	37	16	— 116	0,41
III NaCl	37	16	— 74	0,26

Dauer des Versuchs 3 Stunden.

Resultat: $^1/_{100}$-n hemmt um 79 % gegen NaCl.

6. Coniin (M = 127).

Versuch 6. Coniin.
Bereitung der $^1/_{50}$-n-Lösung:

0,3 ccm (= 0,25 g) Coniin,
40,0 » $^1/_{10}$-n-HCl,
3,4 » 20 % NaCl-Lösung = 0,68 g NaCl,
43,2 » $^1/_{10}$-n-NaOH, [1])
13,0 » H_2O.

100 ccm $^n/_{50}$-n auf 400 ccm mit NaCl verdünnt, geben $^n/_{200}$-Coniin.

Anordnung:
I 3 mal gewaschen und frisch aufgefüllt; wird hämolytisch.
II 1 mal gewaschen und frisch aufgefüllt.
III Nur aufgefüllt mit $^n/_{200}$-Coniin.
IV NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoffverbrauch in ccm
II 1 mal gewaschen und frisch aufgefüllt	37	17	— 39	0,14
III nur aufgefüllt	37	17	— 147	0,51
IV NaCl	37	17	— 92	0,32

Dauer des Versuchs 3 Std. 15 Min.

[1]) 43,2 ccm unserer NaOH neutralisierten 40,0 ccm $^n/_{10}$-HCl.

Resultat: $^{n}/_{200}$-Coniin hemmt die Atmung bei einmaligem Waschen und frischem Auffüllen um **57** % gegen NaCl.

7. Propylamin.

Versuch 7: Propylamin.
Bereitung der Lösung:
1. Herstellung von $^{1}/_{50}$-n-Propylamin wie im vorigen Versuch.
2. Verdünnung auf 400 ccm ergibt $^{n}/_{200}$-Propylamin.

Anordnung:
I 3 mal gewaschen.
II 1 mal gewaschen und frisch aufgefüllt.
III nur aufgefüllt mit $^{n}/_{200}$-Propylamin.
IV NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	17	— 21	0,073
III aufgefüllt	37	17	— 124	0,43
IV NaCl	37	17	— 90	0,31

Dauer des Versuchs: 2 Std. 45 Min.

Resultat: $^{n}/_{200}$-Propylamin hemmt bei 3 maligem Waschen die Atmung um **76** %.

8. Methylamin.

Verwandt wird $^{n}/_{200}$.

Anordnung:
I 3 mal gewaschen.
II nur aufgefüllt mit $^{n}/_{200}$-Methylamin.
III NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	17	— 24	0,084
II aufgefüllt	37	17	— 143	0,50
III NaCl	37	17	— 156	0,54

Dauer des Versuchs: 3 Stunden.

Resultat: $^{n}/_{200}$-Methylamin hemmt bei 3 maligem Waschen die Atmung um **84** %.

9. Nicotin.

Herstellung der $^{n}/_{50}$-n-Lösung:

40,0 ccm einer $^{n}/_{10}$-Lösung Nicotin,
80,0 » $^{n}/_{10}$-HCl,
6,8 » 20% NaCl,
86,0 » NaOH.

Anordnung:
I 3mal gewaschen.
II nur aufgefüllt mit $^{n}/_{50}$-Nicotin.
III NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoffverbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	16	— 47	0,16
II aufgefüllt	37	16	— 113	0,40
III NaCl	37	16	— 127	0,44

Dauer des Versuchs: 1 Std. 30 Min.

Resultat: $^{n}/_{50}$-Nicotin hemmt die Atmung um **62**% bei 3maligem Waschen.

10. Amylamin.

Lösung: $^{n}/_{200}$-Amylamin.
Anordnung:
I 3mal gewaschen.
II 1mal gewaschen und frisch aufgefüllt.
III nur aufgefüllt mit $^{n}/_{200}$-Amylamin.
IV NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoffverbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	15	— 27	0,095
II 1 mal gewaschen und frisch gefüllt	37	15	— 131	0,46
III aufgefüllt	37	15	— 155	0,54
IV NaCl	37	15	— 126	0,44

Dauer des Versuchs: 1 Std. 45 Min.

Resultat: $^{n}/_{200}$-Amylamin hemmt die Atmung um **77**% bei dreimaligem Waschen.

11. Dimethylamin.

Lösung: $^{n}/_{200}$.
Anordnung:
I 3mal gewaschen.

II 1 mal gewaschen und frisch aufgefüllt.
III nur aufgefüllt.
IV NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	15	— 15	0,053
II 1 mal gewaschen und frisch gefüllt	37	15	— 53	0,19
III aufgefüllt	37	15	— 120	0,42
IV NaCl	37	15	— 89	0,31

Dauer des Versuchs: 1 Std. 20 Min.

Resultat: $^n/_{200}$-Dimethylamin hemmt die Atmung um 82% bei 3maligem Waschen.

12. Allylamin.

Verwandt wird $^n/_{150}$-Allylamin.
Anordnung: wie in den vorigen Versuchen.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	16	— 36	0,12
II 1 mal gewaschen und frisch aufgefüllt	37	16	— 64	0,22
III aufgefüllt	37	16	— 149	0,52
IV NaCl	37	16	— 133	0,46

Dauer des Versuchs: 1 Std. 30 Min.

Resultat: $^n/_{150}$-Allylamin hemmt die Atmung um 73% bei dreimaligem Waschen.

C. Alkaloide.

14. Brucin (M wasserfrei 394).

Versuch 14: Brucin
Bereitung der Lösung: 0,6 g Brucin auf 300 ccm 0,9% NaCl-Lösung, heiß gelöst = $^n/_{200}$ Brucin.

Anordnung:
I 3 mal gewaschen.
II aufgefüllt.
III NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	15	— 36	0,13
II nur aufgefüllt	37	15	— 95	0,33
III NaCl	37	15	— 100	0,35

Dauer des Versuchs 2 Std. 30 Min.

Resultat: $^n/_{200}$-Brucinlösung hemmt die Atmung um 64% bei 3maligem Waschen.

15. Chinin (M = 324).

Bereitung der Lösung: 0,7 g Chinin + 40 ccm $^n/_{10}$-HCl, davon 6 ccm auf 300 ccm 0,9% NaCl-Lösung und mit der äquivalenten Menge CO_2-freier NaOH neutralisiert. Man erhält so etwa eine $^n/_{1000}$-Chininlösung.

Anordnung:

I 3 mal gewaschen.

II nur aufgefüllt mit $^n/_{1000}$-Chinin.

III NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	15	— 26	0,091
II aufgefüllt	37	15	— 102	0,36
III NaCl	37	15	— 113	0,40

Dauer des Versuchs 2 Std. 30 Min.

Resultat: $^n/_{1000}$-Chininlösung hemmt die Atmung um **76**% bei 3maligem Waschen.

16. Codein (M = 317).

Bereitung der Lösung:

0,3 g Codein
40,0 ccm $^n/_{10}$-HCl } gut geschüttelt,
3,4 » 20% NaCl,
20,0 » H_2O,
43,2 » NaOH,
= ca. $^n/_{100}$-Codein in NaCl,
verwandt wird $^n/_{400}$-Codein.

Anordnung:

I 4 mal gewaschen und frisch aufgefüllt.

II 2 mal gewaschen und frisch aufgefüllt.

III nur aufgefüllt mit $^n/_{400}$-Codein.

IV NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 4 mal gewaschen und aufgefüllt	37	17	— 44	0,15
II 2 mal gewaschen und frisch aufgefüllt	37	17	— 54	0,19
III aufgefüllt	37	17	— 72	0,25
IV NaCl	37	17	— 69	0,24

Dauer des Versuchs 2 Std. 40 Min.

Resultat: $^{n}/_{400}$-Codein hemmt die Atmung um **36**% bei 4maligem Waschen und Auffüllen mit frischer Lösung.

17. Cocain (M = 303).

Verwandt $^{n}/_{400}$-Cocain.

Anordnung:

I 3 mal gewaschen.

II 1 mal gewaschen und frisch aufgefüllt.

III nur aufgefüllt.

IV NaCl-Kontrolle.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	17	— 52	0,18
II 1 mal gewaschen und aufgefüllt	37	17	— 92	0,32
III aufgefüllt	37	17	— 118	0,41
IV NaCl	37	17	— 92	0,32

Dauer des Versuchs 2 Std. 30 Min.

Resultat: $^{n}/_{400}$-Cocain hemmt die Atmung um **43**% bei 3maligem Waschen.

18. Atropin (M = 289).

Lösung: $^{n}/_{400}$-Atropin.

Anordnung: Wie im vorigen Versuch.

	v.	t.	p.	Sauerstoff-verbrauch in ccm
I 3 mal gewaschen	37	16	— 8	0,028
II 1 mal gewaschen und aufgefüllt	37	16	— 74	0,26
III aufgefüllt	37	16	— 103	0,36
IV NaCl	37	16	— 92	0,32

Dauer des Versuchs 2 Std. 30 Min.

Resultat: $^{n}/_{400}$-Atropin hemmt die Atmung um **90** % bei 3 maligem Waschen.

D. Untersuchungen zur Frage, ob die Atmungshemmung reversibel ist.

19. Ammoniak.

Es soll untersucht werden, ob die durch Ammoniak hervorgerufene Atmungshemmung rückgängig gemacht werden kann.

Bereitung der Lösung wie in Versuch 5, jedoch mit «modifizierter Lockescher Lösung», da die Versuche über Salzlösungen die Schädigung durch NaCl gezeigt haben.

Anordnung: $^{n}/_{35}$-NH_3.

I 1 Röhrchen 2 ccm Suspension + Lockesche Lösung (mit $NaHCO_3$).

II 2 Röhrchen 2 ccm Suspension + NH_3 in Lockescher Lösung (ohne $NaHCO_3$).

III 1 Spitzglas 2 ccm Suspension + Lockesche Lösung (mit $NaHCO_3$).

IV 2 Spitzglas 2 ccm Suspension + NH_3 gelöst in Locke (ohne $NaHCO_3$).

Alle kommen für 2 Stunden in den Thermostaten von 29°, dann werden I und II in Eis gelegt.

Inhalt der Spitzgläser wird 2 mal mit Lockescher Lösung gewaschen, in Atemröhrchen gefüllt und für 2 Stunden in den Thermostaten gelegt.

	v.	t.	p.	Sauerstoffverbrauch in ccm
I Locke 2 Std.	37	16	86	0,30
II NH_3 2 Std.	37	16	25	0,087
III Locke 2 · e 2 Std.	37	16	— 85	0,30
IV mit Locke gewaschen 2 · e 2 Std.	37	16	— 80	0,28

Resultat: Atmungshemmung in den ersten 2 Stunden von **70** %. Nach Waschen und den zweiten 2 Stunden Hemmung auf **6** % zurückgegangen.

20. Ammoniak.

Bereitung der Lösung, Anordnung und Dauer des Versuches genau wie vorher in 19.

	v.	t.	p.	O-Verbrauch in ccm
I Locke 2 Std.	37	17	— 87	0,30
II NH_3 2 Std.	37	17	— 28	0,097
III Locke 2·e 2 Std.	37	17	— 87	0,30
IV gewaschen 2·e 2 Std.	37	17	— 79	0,27

Resultat: Die Atmung, die in den ersten 2 Stunden um **67** % gehemmt war, steigt nach 3maligem Waschen in den zweiten 2 Stunden fast wieder bis auf die ursprüngliche Höhe an.

21. Codein.

Bereitung der Lösung:

0,4 g Codein auf 130 g Locke ohne $NaHCO_3$ = ca. $^n/_{100}$-Codein.

Anordnung und Dauer des Versuches wie in Versuch 19 und 20.

	v.	t.	p.	O-Verbrauch in ccm
I Locke 2 Std.	37	16	— 73	0,25
II Codein 2 Std.	37	16	— 10	0,035
III Locke 2·e 2 Std.	37	16	— 70	0,24
IV gewaschen 2·e 2 Std.	37	16	— 77	0,27

Resultat: Die Atmung, die in den ersten 2 Stunden um **85** % gehemmt war, ist nach den zweiten 2 Stunden völlig zur Norm zurückgekehrt.

E. Untersuchung einiger Stoffe von pharmakologischer Bedeutung.

22. Antipyrin und Coffein.

Anordnung:

I mit 1 % Antipyrin = ca. $^n/_{20}$.
II mit 2 % Antipyrin = ca. $^n/_{10}$.
III mit 1 % Coffein = $^n/_{20}$.
IV mit Lockescher Lösung.
Alle 1 mal gewaschen und mit frischer Lösung aufgefüllt.
Dauer des Versuchs: 3 Stunden.

	v.	t.	p.	O-Verbrauch in ccm
Antipyrin 1 %	37	16	— 62	0,22
Antipyrin 2 %	37	16	— 45	0,16
Coffein 1 %	37	16	— 111	0,39
Locke, Kontrolle	37	16	— 109	0,38

Resultat: Unter den gegebenen Bedingungen hemmt 1% Antipyrin um 42%, 2% um 58%; 1% Coffein hemmt gar nicht.

23. Veronal und Sulfonal.

Anordnung:

I mit 0,5% Veronal = ca. $^{n}/_{80}$.
II mit 0,2% Sulfonal = ca. $^{n}/_{110}$.
III mit NaCl.

Alle 1mal gewaschen und frische Lösungen zugefüllt. Dann für 2 Std. 30 Min. in den Thermostaten.

	v.	t.	p.	O-Verbrauch in ccm
0,5% Veronal	37	16	— 34	0,12
0,2% Sulfonal	37	16	— 93	0,32
NaCl	37	16	— 89	0,31

Resultat: Sulfonal hemmt in der Konzentration von $^{n}/_{110}$ nicht. Veronal hemmt um 61% unter den gegebenen Bedingungen.

24. Veronal.

Veronal in verschieden reagierenden Lösungen.

Anordnung:

I 100 ccm 0,9% NaCl + 0,5 g Veronal + 24 $^{n}/_{10}$-NaOH + 0,06 g NaCl reagiert:

gegen Neutralrot: gelb.
» Phenolphthalein: rosa.

II 100 ccm NaCl (0,9%) + 0,5 g Veronal + 24 ccm einer 1,3% Bicarbonatlösung reagiert:

gegen Neutralrot: orange.

III 100 ccm 0,9% NaCl + 0,5 g Veronal reagiert:

gegen Neutralrot: rot.
» Phenolphthalein: farblos.

IV 0,9% NaCl.

Lösung I, II, III, IV je zu 2 ccm Suspension auf 20 ccm zugefüllt, alle 2mal gewaschen und für 2 Std. 30 Min. in den Thermostaten.

	v.	t.	p.	O-Verbrauch in ccm
0,5% Veronal in alkalischer Lösung	37	15	— 102	0,36
0,5% » » neutraler »	37	15	— 70	0,25
0,5% » » saurer »	37	15	— 36	0,13
NaCl	37	15	— 82	0,29

Resultat: 0,5 % Veronal = ca. $^{n}/_{40}$ hemmt in saurer Lösung um **55** %, in neutraler Lösung um **14** %, in alkalischer gar nicht.

25. Acetanilid und Phenacetin.

Anordnung:

I 0,5 g Acetanilid auf 100 ccm 0,9 % NaCl heiß gelöst, ca. $^{n}/_{27}$.

II 1 ccm einer 10 %igen alkoholischen Lösung Phenacetin auf 140 ccm 0,9 % NaCl-Lösung ca. $^{n}/_{250}$.

III NaCl-Kontrolle.

Alle 3 mal gewaschen und für 2 Std. 30 Min. in den Thermostaten.

	v.	t.	p.	O-Verbrauch in ccm
$^{n}/_{27}$-Acetanilid	37	16	27	0,094
$^{n}/_{250}$-Phenacetin	37	16	53	0,18
NaCl	37	16	89	0,31

Resultat: $^{n}/_{27}$-Acetanilid hemmt um **69** %, $^{n}/_{250}$-Phenacetin um **40** %.

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, Eduard Grafe, Sohn des Geh. Konsistorialrats Professor Dr. Grafe und seiner Gattin Anna Grafe, geborenen Weidenbusch, in Halle am 9. März 1887. Meine Schulzeit verbrachte ich am städtischen Gymnasium in Bonn und verließ es Ostern 1907 mit dem Reifezeugnis. Das erste Semester studierte ich in Bonn, im zweiten genügte ich meiner Militärpflicht beim Husarenregiment Nr. 7 in Bonn. Dann bezog ich die Universität Kiel, wo ich 4 Semester verbrachte und Ende des Wintersemesters 1909/10 die medizinische Vorprüfung bestand. Das erste klinische Semester studierte ich in Bonn, wandte mich im Herbst 1910 nach Heidelberg, wo ich am 4. Mai 1912 die medizinische Staatsprüfung beendete.